

## A IMPORTÂNCIA DO PROCEDIMENTO DE PGD-BIÓPSIA EMBRIONÁRIA PARA DIAGNÓSTICO DE MUTAÇÕES DE ORIGEM CROMOSSÔMICA

Nyszanne Dias Araújo<sup>1</sup>  
Belgath Fernandes Cardoso<sup>2</sup>

**RESUMO:** Problemas relacionados a infertilidade masculina e feminina impossibilitam alguns casais de gerarem um filho sem o auxílio da reprodução humana assistida (RHA). Além do insucesso na concepção de um herdeiro, há casais que ainda enfrentam problemas genéticos e que têm grandes chances de transmitir determinadas alterações aos seus descendentes. O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGD) é um procedimento de biópsia embrionária que possibilita a esses casais uma oportunidade de investigação de alterações cromossômicas em processos de RHA, antes da implantação do embrião, através da extração de células que são submetidas a um método de análise. Neste sentido, diante da importância da técnica, objetiva-se relatar a pertinência do PGD para investigação de alterações cromossômicas. Para tanto, fora desenvolvida pesquisa em literaturas que continham informações sobre a técnica e questões éticas relacionadas ao PGD onde se enfatiza a relevância do procedimento para diagnóstico de mutações cromossômicas por meio de biópsia embrionária.

**Palavras-chave:** Reprodução Humana Assistida (RHA); Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGD); Alterações cromossômicas.

---

<sup>1</sup> Aluna do curso de Biomedicina no UNIVAG – Centro Universitário de Várzea Grande.

<sup>2</sup> Professora do curso de Biomedicina do UNIVAG – Centro Universitário de Várzea Grande.

## INTRODUÇÃO

O conceito de família baseia-se na união de um casal em que este possua um ou mais filhos, e para a maior parte da população é algo que se almeja a partir de certa fase da vida. Porém, nem todos conseguem realizar este desejo da forma mais fácil, e acabam buscando meios para alcançar esse objetivo (SEPÚLVEDA & PORTELLA, 2012).

A infertilidade pode ser definida como um obstáculo que um indivíduo enfrenta em reproduzir, sem a utilização de métodos contraceptivos, tratando-se de um casal em idade fértil, que mantém relações sexuais regulares e frequentes e ainda assim, depois de um prazo de 12 a 18 meses não conseguem gerar um filho. Trata-se de um fenômeno universal que vai além de questões culturais ou sócio econômicas e que atinge cerca de 8 a 15% da população mundial (SILVERBERG *et al.*, 2015).

Problemas relacionados à infertilidade masculina representam cerca de 50% dos casos de insucesso nos processos de reprodução, podendo estar relacionados a presença de doenças sistêmicas graves, azoospermia no ejaculado, endocrinopatias. Ainda, participam destes fatores as anormalidades genéticas, que têm sido apontadas como grandes responsáveis da infertilidade masculina (TUREK, 2005; SHEFI & TUREK 2006).

Já nas mulheres, grande parte das falhas relacionadas a infertilidade estão diretamente ligadas a causas ovarianas e ovulares, tubarias e do canal endocervical. Pode apresentar também causas ligadas a união do espermatozoide com ovócito, relacionadas ao curso do óvulo da tuba até a cavidade uterina e penetrabilidade no endométrio, além das anormalidades genéticas (GLUECK *et al.*, 2000).

Outro fator intimamente ligado a infertilidade feminina é a gestação após os 35 anos. Nessa fase da vida da mulher ocorre uma redução considerável da capacidade reprodutiva em decorrência da diminuição das células sexuais femininas, que pode resultar em infertilidade (PEREIRA *et al.*, 2009)

Neste sentido, métodos de RHA como Inseminação Intrauterina (IIU), Fertilização *in vitro* (FIV), Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI), tem chamado muita atenção de pessoas que querem ter filhos, mas não conseguem reproduzir por métodos convencionais (SEPÚLVEDA & PORTELLA, 2012; GARDNER *et al.*, 2012).

Para minimizar o sofrimento de casais que passam por essas circunstâncias existem procedimentos utilizados durante a FIV e a ICSI que conseguem diagnosticar alterações cromossômicas em embriões antes que estes sejam implantados na mãe, procedimento denominado Diagnóstico Genético Pré Implantacional (GARDNER *et al.*, 2012).

Neste sentido, diante da expressiva importância da técnica, objetivou-se proporcionar o entendimento da sua funcionalidade e importância, com base em literaturas inerentes ao assunto.

## **METODOLOGIA DA PESQUISA**

Trata-se de uma revisão bibliográfica, em que realizou-se pesquisa de conteúdo presente em artigos científicos publicados entre os anos de 2003 a 2016, em português e inglês, contidos nas bases de dados PubMed, Scielo e Bireme, utilizando as palavras Reprodução Humana Assistida (RHA); Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGD); Alterações cromossômicas.

O prazo de publicação foi determinado através da disponibilidade de materiais referentes ao assunto escolhido. Os artigos científicos foram filtrados, de forma que permaneceram apenas os que apresentavam a temática da técnica de Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGD), obedecendo aos idiomas escolhidos para a pesquisa, a partir do ano de 2003.

Posteriormente, foram selecionadas as informações sobre pontos positivos e negativos relacionados à técnica, assim como questões éticas no diagnóstico das alterações cromossômicas utilizando o PGD.

## **DISCUSSÃO**

Para a escolha dos procedimentos de fertilização, a princípio é identificado o problema o qual impossibilita o casal de conseguir gerar filhos, e a partir daí são estudadas as melhores técnicas, para tentar solucionar as possíveis complicações. Porém, o sucesso das técnicas em auxiliar na fecundação não descarta a probabilidade do casal conceber uma criança com alguma alteração que lhe proporcione falta de saúde (GARDNER *et al.*, 2012).

O PGD é sugerido a casais que possuam mais de 35 anos, comprovem sucessivos abortos espontâneos, relatam diversas tentativas de técnicas de RHA falhas, além de serem portadores, ou já terem filhos que, possuam alguma anomalia cromossômica (SEPÚLVEDA & PORTELLA, 2012).

A referida técnica também é conveniente para prevenção de doenças genéticas de forma geral, como método de prevenção de aborto correlacionada à gestação de fetos com

alterações genéticas, além de minimizar a predisposição a câncer, diminuindo a virtual aparição deste em sua família (DINIZ & ALMEIDA 2002; LÓPEZ *et al.*, 2013).

As alterações cromossômicas que o PGD possibilita diagnosticar são aneuploidias, translocações, inversões, duplicações, deleções e doenças monogênicas (BEIGUELMAN, 1982).

Para o diagnóstico e prevenção destas inúmeras alterações cromossômicas que podem acontecer em seres humanos, existem três maneiras para obtenção de células para realização da biópsia embrionária pré-implantacional (SEPÚLVEDA & PORTELLA, 2012).

A biópsia dos corpúsculos polares retirados do oócito é uma técnica na qual se aspira células com o auxílio de uma micropipeta que transpõe a zona pelúcida. Esse método é restrito para diagnósticos de alterações de origem materna, o que restringe a avaliação das informações obtidas por meio desta técnica, descartando a detecção de doenças autossômicas dominantes e translocações herdadas pelo pai, pois o material retirado nesse procedimento é antecedente a fertilização (SLADER, 2005; GARDNER *et al.*, 2012).

A biópsia do blastômero é a mais utilizada. É feita no terceiro dia de desenvolvimento do embrião, fase em que já existam entre seis a oito células. O embrião se desenvolve regularmente e mantém sua evolução de forma saudável graças aos seus blastômeros, que nessa etapa são todos totipotentes. Para a realização dessa biópsia, são retiradas uma ou duas células do embrião, pois os erros na fase de mitose ocorrem predominantemente até o terceiro dia após a fertilização. Sabe-se que, realizar a biópsia em apenas um blastômero pode não resultar em um cariótipo autêntico ao do embrião (DE VOS *et al.*, 2008).

Esse método é também muito utilizado para diagnóstico de doenças monogênicas (XU & MONTAG, 2012)

Por fim, existe a opção de biópsia do blastocisto, feita no quinto dia de desenvolvimento onde já encontram-se em torno de 72 células. Esta é a técnica que consegue analisar o maior número de células (cinco a dez células) por tratar-se de uma técnica atual e disponibilizar a maior quantidade de DNA. A retirada das células nesta biópsia deve ser feita de forma muito cuidadosa, pois ela ocorre na última ocasião em que o embrião pode ser analisado, ou seja, no quinto dia (MALUF & RIEGEL, 2011).

Para realização da biópsia de blastômero e blastocisto o embrião é levado para uma microgota, possuindo meio de cultura tamponado, e posto em um microscópio invertido, equipado com micromanipuladores mecânicos. As células são retiradas por sucção e posteriormente transferidas para um microtubo estéril individualmente, contendo cinco

microlitros de água ultrapura, para dar procedimento ao processo que será amplificado e analisado (DE VOS *et al.*, 2008; MALUF & RIEGEL, 2011).

Para confirmação do diagnóstico, análise da biópsia, o material coletado é submetido a uma técnica; que pode ser a hibridização fluorescente *in situ* (Fish), técnica que analisa de cinco a doze dos 23 pares de cromossomos ou a técnica de Fish, que permite detectar uma sequência específica de DNA através de uma sonda de DNA própria. Trata-se de uma sequência que se liga ao alvo, marcado com fluorocromo. Neste método decorre a hibridização da sonda com o DNA do material, que será investigado em microscópio fluorescente (SEPÚLVEDA & PORTELLA, 2012).

A técnica denominada *Comparative Genomic Hybridization* (CGH) pode ser utilizada na avaliação de todo o genoma. Trata-se de um método de hibridização reversa aplicada a citogenética molecular, que permite identificar alterações cromossômicas por perda ou ganho de material. Para o desenvolvimento deste processo, o DNA a ser pesquisado é confrontado a um DNA controle por meio de um software específico, desta forma a técnica possibilita a análise de todo o genoma, sem a obrigatoriedade de cultura de células (SEPÚLVEDA & PORTELLA, 2012; GARDNER *et al.*, 2012).

Ainda, a reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma grande auxiliar do processo, pois possibilita a formação de uma extensa quantia de elementos próprios do DNA provenientes de substratos complexos em pequenas concentrações que pode ser usado para investigação de uma mutação específica de um gene com sequência conhecida, além de ser a técnica mais eficiente para diagnóstico de doenças monogênicas (SEPÚLVEDA & PORTELLA, 2012; GARDNER *et al.*, 2012).

Após um ou dois embriões apresentarem normalidade, serão enfim implantados no útero, entre o terceiro ou quinto dia de seu desenvolvimento, dependendo do estágio celular que foi escolhido para a biópsia. Os embriões normais excedentes podem ser criopreservados e usados pelo casal para futuras gestações ou, segundo as normas da resolução 2.121/2015 do Conselho Federal de Medicina, podem ser descartados, com a autorização dos pacientes, caso já estejam a mais de cinco anos em criopreservação e o casal não tenha interesse em usar esses embriões em pesquisas de células-tronco (GARDNER *et al.*, 2012; GALLO 2015).

Observando os diversos benefícios que o PGD possibilita, tornam-se evidentes também as questões éticas que englobam esse assunto. O uso da técnica com finalidade de escolher características físicas como, cor dos olhos, cabelo e pele, ou até mesmo fatores psicológicos como inteligência, remete a uma opção de melhoramento genético da espécie

humana, selecionando indivíduos com características de um “ser perfeito” (KLIPSTEIN, 2005; CARNEIRO, 2011).

Não existe a possibilidade de escolha do sexo do bebê sem finalidade terapêutica, porém países como Índia, por exemplo, por questão cultural têm preferências por crianças do sexo masculino, o que foge completamente do objetivo do uso da técnica (WHITTAKER, 2011).

A opção da concepção de crianças com o auxílio do PGD para serem doadoras de células tronco, também acarreta muita discussão. A expectativa que um casal tem em gerar uma criança apenas com a função de salvar outra criança existente, submete ao risco desse bebê reproduzido graças a técnica, ser menos amado que o primogênito, provocando então uma dúvida sobre a utilização do procedimento para essa finalidade. Segundo a Lei de Biossegurança 11.105/2005 artigo 5º, mediante o consentimento dos genitores, é permitido, quando destinada para pesquisa e terapia, o uso de células-tronco embrionárias adquiridas de embriões humanos gerados por fertilização *in vitro* (DEVOLDER, 2005; GREWAL, 2004). Neste sentido a mesma deve ser utilizada com muita cautela.

## CONCLUSÃO

Através da presente revisão bibliográfica, pode se estabelecer a importância do diagnóstico pré-implantacional, sendo um recurso positivo dentro da reprodução humana assistida, apesar de ainda propiciar muita discussão a respeito de questões éticas que envolvem a técnica. O PGD é um método de diagnóstico de alterações cromossômicas que vem se aperfeiçoando com o passar dos anos e trazendo benefícios a diversos casais que, sem a ajuda desse procedimento, poderiam sofrer com o abalo psicológico de uma gestação com mutação genética.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEIGUELMAN B. Citogenética humana. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**; 1982.

CARNEIRO, M. M. L. O diagnóstico pré-implantatório como instrumento de aperfeiçoamento genético: o dilema da eugenia à luz dos direitos e garantias fundamentais. 67f. Monografia (Pós-graduação Lato Sensu). **UNESC**, Criciúma; 2011.

DEVOLDER, K. Preimplantation HLA typing: having children to save our loved ones. **J. Med. Ethics**, Londres, (31), n. 10, p. 582–586; 2005.

DE VOS, A., STAESSEN C., RYCKE M., *et al.* Impact of Cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocyst implantation: A prospective cohort of single embryo transfers. **Hum Reprod.** 24(12):2988–96; 2009.

DINIZ D., ALMEIDA M. Bioética e aborto. In: Diniz D, Guilhem D, editors. **O que é bioética.** São Paulo: Editora Braziliense. p. 125–37; 2002.

GALARNEAU C. J. , NAGLER H. M . Cost-effective infertility therapies in the ‘90s: to treat or to cure? **Contemp Urol.** 11(1):32-45; 1999.

GALLO J. H. S. Resolução CFM nº 2.121/2015. **Cons. Fed. de Med.** Brasília. Distrito Federal. [acesso em 02 jul 2017]; 2015.

GARDNER R. J. M., SUTHERLAND G. R., SHAFFER L. G. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 4a ed. New York: **Oxford University Press**; 2012.

GLUECK C. J. *et al.* Polycystic ovary syndrome, infertility, familial thrombophilia, familial hypofibrinolysis, recurrent loss of in vitro fertilized embryos, and miscarriage. **Fertil Steril.** 74(2):394-7; 2000.

GREWAL, S. S. *et al.* Successful hematopoietic stem cell transplantation for Fanconi anemia from an unaffected HLA-genotype-identical sibling selected using preimplantation genetic diagnosis. **Blood**, New York, (103), n. 3, p. 1147-1151; 2004.

KLIPSTEIN, S. Preimplantation genetic diagnosis: technological promise and ethical perils. **Fertil Steril.**, New York, (83), n. 5, p. 1347–1375; 2005.

KUMAR V. *et al.* Patologia: bases patológicas das doenças. 8a ed. **Elsevier.** Rio de Janeiro; 2010.

LÓPEZ *et al.* Diagnóstico genético pre implantacional: análisis de aneuploidías únicas. **An Fac Med.** 74(1):11–4; 2013.

MALUF SW., RIEGEL M. Citogenética humana. São Paulo: **Artmed**; 2011.

PEREIRA E. M., MARTINS W. P, FERREIRA A. C., *et al.* Infertilidade e receptividade endometrial: Considerações Atuais. **Femina.** 37(1):35–9; 2009.

SEPÚLVEDA S., PORTELLA J. Diagnóstico genético pre implantacional: alcances y límites. **Rev Peru Ginecol Obstet.** 58(3):207–11; 2012.

SLADER T. W. Langman Embriologia Médica. 9ª ed. Brasil: **Guanabara Koogan**; 2005

SHEFI S., TUREK P. J . Definition and current evaluation of subfertile men. **Int Braz J Urol.** 32(4):385-97; 2006.

SILVERBER K., MELETICHE D., ROSARIO G. D. An employer experience with infertility coverage: a case study. **Fertil Steril.** [acesso 07 mai. 2016]. 92(6):2103-05; 2015.

TUREK P. J. Practical approaches to the diagnosis and management of male infertility. **Nat Clin Pract Urol.** 2(5):226-38; 2005.

XU K, MONTAG M. New perspectives on embryo biopsy: Not how, but when and why? **Semin Reprod Med.** 30: 259–66; 2012.

WHITTAKER, A. M. Reproduction opportunists in the new global sex trade: PGD and non-medical sex selection. **Reprod. Biomed. Online**, Cambridge, (23), n. 5, p. 609-617; 2011.